

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

18. 6. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

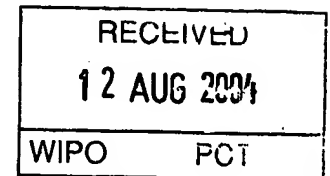
出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 6 月 1 8 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 1 7 3 4 3 1
Application Number:

[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 1 7 3 4 3 1]

出 願 人
Applicant(s):

株式会社 L T T バイオファーマ
独立行政法人物質・材料研究機構
小川 泰亮

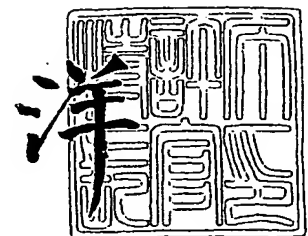
**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 7 月 2 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 P-1105
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61K 38/00

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区六本木 6-12-3

【氏名】 水島 裕

【発明者】

【住所又は居所】 京都府乙訓郡大山崎町字大山崎小字谷田 77番42号

【氏名】 小川 泰亮

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市千現 1丁目 2番 1号独立行政法人物質・
材料研究機構内

【氏名】 田中 順三

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市千現 1丁目 2番 1号独立行政法人物質・
材料研究機構内

【氏名】 生駒 俊之

【特許出願人】

【識別番号】 303010452

【氏名又は名称】 株式会社 LTT バイオフィーマ

【特許出願人】

【識別番号】 301023238

【氏名又は名称】 独立行政法人物質・材料研究機構

【特許出願人】

【住所又は居所】 京都府乙訓郡大山崎町字大山崎小字谷田 77番42号

【氏名又は名称】 小川 泰亮

【代理人】

【識別番号】 100096758

【弁理士】

【氏名又は名称】 高橋 剛

【選任した代理人】

【識別番号】 100114845

【弁理士】

【氏名又は名称】 高橋 雅和

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 003414

【納付金額】 12,600円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【その他】 国等以外のすべての者の持分の割合 60 / 100

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 薬物の徐放性微粒子製剤及びその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒト成長ホルモンを除く薬物、多孔性アパタイト誘導体および水溶性2価金属化合物からなることを特徴とする薬物の徐放性微粒子製剤。

【請求項2】 多孔性アパタイト誘導体がヒドロキシアパタイトの構成成分であるカルシウムの一部を製造時に亜鉛に置換した多孔性アパタイト誘導体であることを特徴とする請求項1記載の薬物の徐放性微粒子製剤。

【請求項3】 多孔性アパタイト誘導体の亜鉛置換または含有率が0.1～2.0であることを特徴とする請求項2記載の薬物の徐放性微粒子製剤。

【請求項4】 水溶性2価金属化合物が亜鉛化合物であることを特徴とする請求項1記載の薬物の徐放性微粒子製剤。

【請求項5】 水溶性2価金属化合物が塩化亜鉛であることを特徴とする請求項4記載の薬物の徐放性微粒子製剤。

【請求項6】 多孔性アパタイト誘導体の微粒子を薬物含有の水溶液中に攪拌・分散し、水溶液が該多孔性アパタイト誘導体中に浸潤したのち水溶性2価金属化合物を含む水溶液を添加し、水溶性2価金属化合物を該多孔性アパタイト誘導体に浸潤させ、その後安定剤などの添加物を加えて、凍結乾燥または真空乾燥することにより製造されることを特徴とする薬物の徐放性微粒子製剤の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体内で消失する多孔性アパタイト誘導体の微粒子を基剤とする薬物の徐放性微粒子製剤およびその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

薬物の長期間にわたる微粒子の徐放性注射剤は、これまでポリ乳酸・グリコール酸 (PLGA) を基剤にしてその多くは検討されてきた (例えば、特許文献1, 特

許文献 2, 特許文献 3 参照)。又、ヒト成長ホルモン (hGH) を含有する PLGA を基剤とした徐放性マイクロカプセルが報告されている (例えば、非特許文献 1 参照)。又、LHRH アゴニストであるリュープロレリンを含有する PLGA を基剤とした徐放性マイクロカプセルが報告されている (例えば、非特許文献 2 参照)。PLGA は生体内で加水分解して消失する生体内消化性の基剤で注射剤の基剤としては好ましい性質を有している。しかし、一般的に PLGA を使用する微粒子型の徐放性製剤において内封される薬物の水溶性が高ければ、投与初期に過剰な放出 (初期バースト) をすることは避けられない問題点がある。また、製造に際して、有機溶媒の使用が避けられず、タンパク性薬物においては失活の問題がある。さらに、通常使用される製造方法としての溶媒除去法を採用すると、水溶性薬物の場合、その封入量は 10 重量% 以下となり、活性の弱い薬物では全体の投与量が大きくなり、投与しにくい。また、製剤の平均粒子径が $20\mu\text{m}$ 以上となり、比較的大きく、注射用針は 21~23G と太い針が必要となる。また、ヒドロキシアパタイトを用いた薬物の徐放性粒子についてはすでにいくつかの報告はある (例えば非特許文献 3, 非特許文献 4 参照)。しかし、いずれも薬物とヒドロキシアパタイトとの 2 成分系であり、ヒドロキシアパタイトの粒子径も $40\sim 80\mu\text{m}$ あるいは $200\mu\text{m}$ と大きく、また、in vivo における徐放効果は不明である。さらに、アパタイト粒子に吸着した薬物 (封入量) も 1% 以下と小さいものであった。

【0 0 0 3】

【特許文献 1】

特開平 1 1 - 2 8 6 4 0 3 (請求項 1)

【特許文献 2】

特開 2 0 0 0 - 2 3 9 1 0 4 (請求項 1)

【特許文献 3】

特開 2 0 0 2 - 3 2 6 9 6 0 (請求項 1 3, 1 5)

【非特許文献 1】

Nature Medicine, 2: 795-799, 1996

【非特許文献 2】

Chemical Pharmaceutical Bulletin, 36: 1095-1103, 1988

特許 2005-175401

【非特許文献3】

H. Gautier et al: Journal of Biomedical Material Research, 40, 606-613, 1998

【非特許文献4】

J. Guicheux et al: Journal of Biomedical Material Research, 34, 165-170, 1997

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

徐放性基剤には、投与後、薬物の放出の終了に近い時間内に生体内から消失するいわゆる生体内分解性あるいは生体内消失性の性質を有する素材を選定しなければならない。水溶性の高い薬物の場合においても投与初期に過剰の薬物が放出する初期バースト放出も小さいものでなければならない。さらに、薬物がタンパク性である場合を考慮して、有機溶媒を極力使用しないで製造ができる徐放性基剤と製造方法をみいださなければならない。微粒子性製剤中の薬物封入量は10重量%以上とし、23G以下の細い注射針でも容易に通過でき、薬物徐放期間は少なくとも3日間以上にわたる製剤を調製するものでなければならない。

【0005】

本発明者らは、これらの問題を解決するために、多孔性アパタイト誘導体の微粒子を利用することによって、種々の薬物に関する徐放性製剤が得られることをみいだした。さらに、水溶性2価金属化合物及びヒト成長ホルモンを除く薬物を併用することによって少なくとも3日間以上にわたり薬物が徐放されること、ならびに水溶性の高い薬物においても初期バースト放出が抑制されることをみいだした。

【0006】

そこで、本発明は、種々の薬物に関する徐放性微粒子製剤を得ること、又少なくとも3日間以上にわたり薬物が徐放され、かつ水溶性の高い薬物においても初期バースト放出を回避することが出来る薬物の徐放性微粒子製剤及びその製造方法を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】

薬物の徐放性微粒子製剤は、

ヒト成長ホルモンを除く薬物、多孔性アパタイト誘導体および水溶性多価金属化合物からなるものであり、水溶性多価金属化合物としては、塩化亜鉛、塩化カルシウム、水酸化カルシウム、塩化鉄、水酸化鉄、塩化コバルト、塩化アルミニウム、酢酸亜鉛などがあげられるが、なかでも水溶性2価金属化合物が最も好ましい。水溶性2価金属化合物としては亜鉛化合物及びカルシウム化合物が好適であるが、塩化亜鉛が最も好ましい。その他酢酸亜鉛、塩化カルシウム等も好適である。

又、多孔性アパタイト誘導体がヒドロキシアパタイトの構成成分であるカルシウムの一部を組成として製造時に亜鉛に置換した多孔性アパタイト誘導体であることが好適である。

又、多孔性アパタイト誘導体の亜鉛置換率または含有率が0.1~2.0であることが好適である。

【0008】

さらに、本発明の薬物の徐放性微粒子製剤の製造方法は、多孔性アパタイト誘導体の微粒子を薬物含有の水溶液中に攪拌・分散し、水溶液が該多孔性アパタイト誘導体中に浸潤したのち水溶性2価金属化合物を含む水溶液を添加し、水溶性2価金属化合物を該多孔性アパタイト誘導体に浸潤させ、その後安定剤などの添加物を加えて、凍結乾燥または真空乾燥することからなる。

【0009】

また、ここで用いられるヒト成長ホルモンを除く薬物についてはとくに限定しないが水溶性の薬物が好ましい。例えば、タンパク性薬物では、インターフェロン類、インターリウキン類、G-CSF、BDNF、FGF、EGF、各種抗体などがあげられる。ペプチド系薬物としては、GnRH誘導体、TRH、エンケファリン類、PTH、カルシトニンなどがあげられる。DNA関連物質として、アンチセンス、リボザイムなどがあげられる。その他、抗炎症薬、ステロイド誘導体、抗痴呆薬、循環器系疾患治療薬などがあげられる。

【0010】

基本的な製造方法は、多孔性アパタイト誘導体の微粒子を薬物含有の水溶液中に攪拌・分散し、十分に水溶液が該多孔性アパタイト誘導体中に浸潤したのち、さらに水溶性2価金属化合物を含む水溶液を添加し、水溶性2価金属化合物を十分に該多孔性アパタイト誘導体中に浸潤させる。その後、適当な安定剤などの添加物を加えて凍結乾燥または真空乾燥することによって薬物を含む多孔性アパタイト誘導体微粒子を基剤とする粉末の徐放性微粒子製剤を得る。実際に投与するときには、この得られた粉末を適当な分散媒中に分散して、皮下または筋肉内などに注射投与する。このようにして得られた微粒子を室温で多量の精製水中に分散することによって封入した薬物の脱離を測定すると、薬物により異なるが、多孔性アパタイト誘導体類に対して一定の量までは薬物は脱離しなかった。すなわち、薬物は、多孔性アパタイト類の細孔内に浸潤して吸着しているものと考えられる。

【0011】

ここで使用する多孔性アパタイト誘導体微粒子は、既知の方法で得ることができる。たとえば、「山口喬・柳田博明編、牧島亮男・青木秀希著：セラミックスサイエンスシリーズ7バイオセラミックス、技報堂出版株式会社、7-9ページ、1984」に記載されている方法などが挙げられる。多孔性アパタイト誘導体としては、ヒドロキシアパタイトの組成としてCaの一部を亜鉛（Zn）で置換したものが最も好ましい。その置換率（Ca10原子に対するZnの原子数）は、0.1～5.0が好ましく、0.1～2.0がより好ましい。このとき、(Ca+Zn)/Pの比率によって生体内での消失速度が異なり、1.67よりも小さい方が水に溶けやすく、すなわち生体内で消失する速度が速くなる。(Ca+Zn)/Pの比が1.67～1.51の範囲内であることが好ましい。この範囲の多孔性アパタイト誘導体を使用すると生体内で数週間から数ヶ月以内に消失する。その置換率または含有率（Ca10原子に対するZnの原子数）は、0.1～5.0が好ましく、0.1～2.0がより好ましい。また、多孔性アパタイト誘導体を製造するときの焼成温度は、低い方が水に溶けやすく、したがって生体内での消失速度も速くなる。焼成温度は、室温～800℃が用いられるが、150℃～600℃が好ましい。さらには150℃～400℃がより好ましい。800℃以上で焼成されると生体内で消失しなくなる。微粒子の粒子径は、焼成温度で制御できるが $0.1\mu\text{m}$ ～

100 μm の範囲で使用できる。このうち、0.1 μm ~20 μm が好ましい。さらには、0.2 μm ~10 μm がより好ましく利用できる。

【0012】

上記の薬物の多孔性アパタイト誘導体への吸着率は、Zn置換をしないヒドロキシアパタイトに比較して多孔性アパタイト誘導体の方がはるかに大きい。これは亜鉛を置換または含有させることで、有意に比表面積・気孔率が高くなるためである。吸着率の大きいほど徐放性微粒子製剤の総投与量が少なくなり好ましい。好ましい吸着率は、薬物の至適投与量によって異なるが、一般的には、多孔性アパタイト類の2~30重量%である。このうち5~25重量%が好ましく用いられる。さらには10重量%以上吸着するものがより好ましい。

【0013】

多孔性アパタイト誘導体類に薬物を吸着させた後、添加する水溶性2価金属化合物は、ZnまたはCaが好ましい。なかでもZnが最も好ましい。その使用量は、薬物の物理化学的性質によって異なるが、一般的には、多孔性アパタイト誘導体の1~70重量%の範囲で使用される。十分な徐放性を維持させるには、5~70重量%が好ましく用いられる。使用される水溶性2価金属化合物は、塩化物、有機酸の塩が好んで用いられる。たとえば塩化亜鉛、酢酸亜鉛、塩化カルシウムなどが挙げられる。

以上のようにして得られた薬物を含有する徐放性微粒子製剤の徐放期間は、HAP誘導体の焼成温度、2価金属化合物の使用量により制御でき、3日間以上にわたり薬物の徐放が可能である。1週間以上にわたる徐放も可能で、実用的には1週間以上の徐放が好ましい。

【0014】

最終的に得られた徐放性微粒子製剤の粒子径は、通常の投与に用いられる注射針を通過すればよい。実際には、注射針の径は細いほど患者に対する恐怖心も小さい。注射針の太さをあらわす国際基準で25G以下（数字の大きいほど細くなる）の太さの針を通過することが好ましい。このため、徐放性微粒子製剤の粒子径は小さいほど好ましいが、極端に小さくすると薬物の保持量が少なくなるし、か

つ、初期バースト放出が大きくなる。実際には $0.5\mu\text{m}\sim 20\mu\text{m}$ が好ましい。さらに、 $0.5\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ がより好ましい。 $10\mu\text{m}$ 以下の粒子とすると27Gの注射針を容易に通過する。ここで使用される薬物には特に制限がないが、水溶性であることおよび多孔性アパタイト誘導体類に吸着すればよい。水溶性の尺度は、水に対する溶解度で評価できる。その溶解度は $100\mu\text{g/mL}$ 以上あれば通常は徐放性微粒子製剤を調製できる。より好ましくは $500\mu\text{g/mL}$ 以上、 1mg/mL 以上の溶解度がさらに好ましい。

【0015】

【実施例】

以下に実施例をあげて本発明を詳細に記載するがもちろんこの例に限定されるものではない。

[実施例1]

リン酸ベタメタゾンあるいはリン酸ヒドロキシコーチゾン水溶液 ($100\mu\text{L}$ 、 $100\mu\text{g/mL}$) に所定量の多孔性ヒドロキシアパタイト (HAP) または多孔性アパタイト0.5モル亜鉛置換誘導体 (HAP-Zn-0.5) の水懸濁液 ($100\mu\text{L}$) を混合し、室温10分間放置後2500Gで遠心し、その上清の230nmでの吸収値から上清に遊離したリン酸ベタメタゾンまたはリン酸ヒドロキシコーチゾンを定量した。はじめに適用した所定量の薬物量から上清中に流失した残りの薬物量を吸着量とした。その結果を下記の表1に示す。表1から明らかのように、薬物に対してHAPまたは多孔性アパタイト誘導体の量が大きくなるほど薬物はHAPまたは多孔性アパタイト誘導体に高い比率で吸着した。その吸着比は、HAPに比べて多孔性アパタイト誘導体を用いた方が有意に高かった。

【0016】

表1

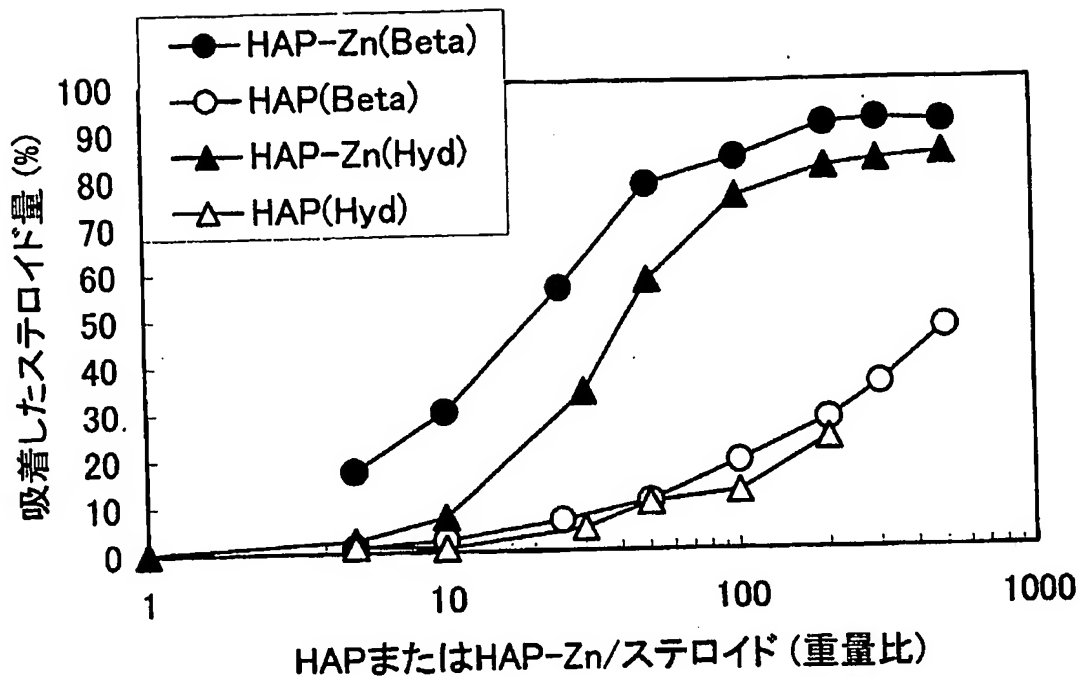


表1中Betaは、リン酸ベタメサゾン进行意味し、Hydは、リン酸ヒドロコルチゾン进行意味する。また、ステロイドとは、リン酸ベタメタゾンまたはリン酸ヒドロキシコルチゾン进行意味する。

【0017】

[実施例2]

多孔性ヒドロキシアパタイト (HAP) または多孔性アパタイト誘導体 (0.5モル亜鉛置換または含有誘導体 (HAP-Zn-0.5)) を45mg精秤し、それにインターフェロン- α (IFN) の2.4mg/mL溶液からIFNとして30 μ gを加え、10分間放置した。その後、これに20mMの酢酸亜鉛溶液を1mL加え、30分間振とうした。この分散液に1.5mLの水を加え、洗浄して洗浄液中IFNを定量したところ、HAPの場合もHAP-Zn-0.5の場合もIFNは検出されなかった。すなわち、全てのIFNはHAPまたはHAP-Zn-0.5に吸着していることが確認された。このように、有機溶媒を使用しないでタンパク質であるIFNを吸着した微粒子製剤をえることができた。洗浄後得られた粉末に20%FCS含有のPBS溶液20mLを加え、37℃で16時間振とうした。上清に溶出してきたIFNを定量して溶出率を算出した。下記の表2に示す結果が得られた。

【0018】

表2 HAPおよびHAP-Zn-0.5に吸着したIFNの溶出率

			溶出した IFN (%)
HAP	酢酸亜鉛	0mM	92
	酢酸亜鉛	20mM	87
HAP-Zn-0.5	酢酸亜鉛	0mM	89
	酢酸亜鉛	20mM	78

いずれのシステムでも酢酸亜鉛の添加によって溶出は抑制され、無添加に比較してより長時間にわたる徐放性をしめした。HAPとHAP-Zn-0.5とを比較すると、明らかにHAP-Zn-0.5の方が溶出は遅延され、より長時間の徐放性を示した。

付願 2 0 0 0 1 0 0 0 0

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 種々の薬物に関する徐放性微粒子製剤を得ること、又少なくとも3日間以上にわたり薬物が徐放され、かつ水溶性の高い薬物においても初期バースト放出を抑制することが出来る薬物の徐放性微粒子製剤及びその製造方法を提供すること。

【解決手段】 ヒト成長ホルモンを除く薬物、多孔性アパタイト誘導体および水溶性2価金属化合物からなること。多孔性アパタイト誘導体の微粒子を薬物含有の水溶液中に攪拌・分散し、水溶液が該多孔性アパタイト誘導体中に浸潤したのち水溶性2価金属化合物を含む水溶液を添加し、水溶性2価金属化合物を該多孔性アパタイト誘導体に浸潤させ、その後安定剤などの添加物を加えて、凍結乾燥または真空乾燥することにより製造されること。

【選択図】 なし

特願 2003-173431
認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-173431
受付番号	50301017823
書類名	特許願
担当官	関 浩次 7475
作成日	平成15年 9月11日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成15年 6月18日

特願 2003-173431

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[303010452]

1. 変更年月日

2003年 2月25日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区愛宕2丁目5番1号

氏 名

株式会社LTTバイオフィーマ

特願 2003-173431

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[301023238]

1. 変更年月日

2001年 4月 2日

[変更理由]

新規登録

住 所

茨城県つくば市千現一丁目2番1号

氏 名

独立行政法人物質・材料研究機構

特願 2003-173431

出願人履歴情報

識別番号

[503221632]

1. 変更年月日

2003年 6月18日

[変更理由]

新規登録

住 所

京都府乙訓郡大山崎町字大山崎小字谷田77番42号

氏 名

小川 泰亮